



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103353521 A

(43) 申请公布日 2013. 10. 16

(21) 申请号 201310219363. X

(22) 申请日 2013. 06. 04

(71) 申请人 华中师范大学

地址 430079 湖北省武汉市洪山区珞瑜路  
152 号

(72) 发明人 牡丹

(74) 专利代理机构 湖北武汉永嘉专利代理有限  
公司 42102

代理人 张安国 乔宇

(51) Int. Cl.

G01N 33/53 (2006. 01)

G01N 33/531 (2006. 01)

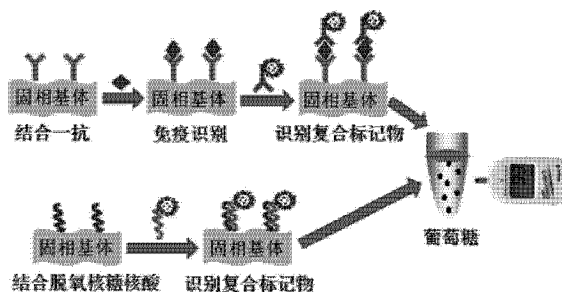
权利要求书2页 说明书5页 附图2页

(54) 发明名称

直读便携式血糖仪测定生物标志物及 DNA 含  
量的方法

(57) 摘要

一种用直读便携式血糖仪测定生物标志物及 DNA 含量的方法,采用包埋葡萄糖分子的载体脂质体、金属空心球、多孔碳球、多孔硅球或聚合物球作为复合标记物,通过夹心免疫反应或者 DNA 反应引入到传感器表面,将生物标志物或者 DNA 检测转化为检测最终产物葡萄糖,根据夹心免疫分析原理,待测生物标志物及 DNA 的含量与被包埋的葡萄糖含量成正比,通过血糖仪检测葡萄糖的浓度即得到生物标志物及 DNA 的含量。本发明将血糖仪发展成为了一种便携式、万能型的生物标志物及 DNA 测定仪,构建了基于血糖仪检测技术的生物标志物及 DNA 分析新方法,可用于各种生物标志物、DNA 的实时、在线、简便、灵敏的测定。所用仪器设备简单,分析成本低。



1. 用直读便携式血糖仪测定生物标志物及 DNA 含量的方法,其特征在于:采用包埋葡萄糖分子的载体脂质体、金属空心球、多孔碳球、多孔硅球或聚合物球作为复合标记物,通过夹心免疫反应或者 DNA 反应引入到传感器表面,将生物标志物或者 DNA 检测转化为检测最终产物葡萄糖,根据夹心免疫分析原理,待测生物标志物及 DNA 的含量与被包埋的葡萄糖含量成正比,通过血糖仪检测葡萄糖的浓度即得到生物标志物及 DNA 的含量。

2. 根据权利要求 1 所述的用直读便携式血糖仪测定生物标志物及 DNA 含量的方法,其特征在于:测定磷化 p53 蛋白 p53<sup>15</sup> 步骤如下:

(1) 免疫反应:在 9 个 0.5mL 塑料离心管中分别加入 100 μL 磁性纳米复合物 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-p53<sup>15</sup>Ab<sub>1</sub>,然后在上述 9 个离心管中分别加入 100 μL 浓度为 0.2ng/mL,0.5ng/mL,1ng/mL,2ng/mL,5ng/mL,10ng/mL,20ng/mL,50ng/mL,100ng/mL 的 p53<sup>15</sup>, 孵化 50 分钟后,磁性分离;用磷酸缓冲溶液洗涤 2 次以上后,再分别加入 100 μL 脂质体复合标记物 p53<sup>15</sup>Ab<sub>2</sub>-liposome,孵化 40 分钟,磁性分离;

(2) 测定:向离心管中加入 10 μL 10mg/mL TritonX-100,使葡萄糖分子从被俘获的脂质体的内腔中释放出来;然后磁分离移走免疫复合物,取 20 μL 上层清液滴在血糖仪的试纸条上,直接读出血糖仪的示数,即为转化成样品中 p53<sup>15</sup> 的含量。

3. 根据权利要求 2 所述的用直读便携式血糖仪测定生物标志物及 DNA 的方法,其特征在于步骤(1)中所用的 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-p53<sup>15</sup>Ab<sub>1</sub> 的制备方法:

1)、200 μL 5.0mg/mL 羧基化的磁性纳米颗粒 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-COOH,分散在 1.0mL 含有 400mM 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐和 100mM N-羟基琥珀酰亚胺的 pH5.2 磺基脂肪酸甲酯钠盐缓冲溶液中,活化 30min 后磁分离,并用磷酸缓冲溶液多次洗涤除去过量的 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐和 N-羟基琥珀酰亚胺;

2)、将 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-COOH 分散在 1.0mL 20 μg/mL p53<sup>15</sup>Ab<sub>1</sub> 中反应 12h,磁分离后用磷酸缓冲溶液洗涤 3 次,将所得到的磁性纳米复合物 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-p53<sup>15</sup>Ab<sub>1</sub> 分散在含有 1% 牛血清蛋白的磷酸缓冲溶液中,保存于 4° C 备用即可。

4. 根据权利要求 2 所述的用直读的便携式血糖仪测定生物标志物及 DNA 的方法,其特征在于步骤(1)中所用的 p53<sup>15</sup>Ab<sub>2</sub>-liposome 复合标记物的制备方法:

第一步,制备包埋葡萄糖的生物素标记脂质体:称取 124mg 氢化大豆卵磷脂、25mg 胆固醇、6mg 二硬脂酰乙醇胺-聚乙二醇-生物素加入到 50mL 圆底烧瓶中,二硬脂酰乙醇胺-聚乙二醇-生物素摩尔比 159:64:2,溶于 15mL 混合溶剂,混合溶剂是氯仿、异丙醚和甲醇混合物,氯仿:异丙醚:甲醇体积比=6:6:1,在 45° C 氮气保护下超声,直到混合物分散均匀,接着将 5mL 5mg/mL 45° C 的葡萄糖溶液加入上述混合物中探头超声 5 分钟,使其形成颗粒均匀分散的乳浊液;然后在 45° C 减压旋转蒸发以除去有机溶剂,得到类凝胶状的分散液;所得到的脂质体溶液在 45° C 水浴孵化 30min 后,维持在 45° C 条件下反复过厚度为 0.4 μm 聚碳酸酯膜 10 次,得到粒径均匀分布的包埋葡萄糖的脂质体,将反应液通过 SephadexG-50 柱以除去未包封的葡萄糖及残留的有机物,然后在室温下透析 12h,即得到包埋葡萄糖的生物素标记脂质体;

第二步,合成 p53<sup>15</sup>Ab<sub>2</sub>-liposome 复合标记物:p53<sup>15</sup>Ab<sub>2</sub>-liposome 通过生物素和亲和素之间的相互作用来合成,用按第一步合成的包埋葡萄糖的生物素标记脂质体和商品化的 p53<sup>15</sup>Ab<sub>2</sub>-biotin 合成,具体操作如下:100 μL 0.06mg/mL<sup>-1</sup> 亲和素与 100 μL 生物素标记脂质

体室温混合震荡 2h, 待其反应完全后向混合物中加入  $100 \mu\text{L}$   $7.5 \mu\text{g/mL}$   $\text{p53}^{15}\text{Ab}_2\text{-biotin}$  室温反应 2h, 接着将所得到的免疫复合物  $\text{p53}^{15}\text{Ab}_2\text{-生物素-亲和素-生物素标记脂质体}$ , 简称为  $\text{p53}^{15}\text{Ab}_2\text{-liposome}$ , 超滤离心以除去未结合的抗体, 然后将其分散在含有 1% 牛血清蛋白的磷酸缓冲溶液中, 保存于  $4^\circ\text{C}$  冰箱备用即可。

5. 根据权利要求 4 所述的用直读的便携式血糖仪测定生物标志物及 DNA 的方法, 其特征在于: 所述的  $\text{p53}^{15}\text{Ab}_2\text{-liposome}$  复合标记物的制备方法第二步中, 所述的超滤离心是以 12,000rpm 离心 10 分钟后, 弃去上层清液。

## 直读便携式血糖仪测定生物标志物及 DNA 含量的方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及采用直读便携式血糖仪测定生物标志物及脱氧核糖核酸 (DNA) 含量的方法。具体涉及包埋葡萄糖分子的复合纳米载体的制备方法,将生物标志物或者 DNA 检测转化为检测最终产物葡萄糖,以及采用血糖仪检测技术用于测定各种生物标志物、DNA 含量的分析方法。

### 背景技术

[0002] 生物标志物是生物体受到严重损害之前,在不同生物学水平上因受环境污染物影响而异常化的信号指标。它可以对严重毒性伤害提供早期警报,可用于疾病诊断、判断疾病分期或者用来评价新药或新疗法在目标人群中的安全性及有效性,其含量高低是客观评价个体健康状况的一个重要指标。与疾病相关的生物标志物大多是由一些癌症抗原、细胞角蛋白、酶或某些癌基因组成,发展简便、灵敏的检测技术对于疾病及癌症的早期诊断与治疗具有至关重要的作用。目前,基于这类生物标志物的检测方法主要包括:免疫法、色谱法、荧光法、电化学方法等。其中免疫法以其高特异性得到广泛使用。免疫法是利用抗原抗体特异性结合反应检测各种物质(药物、激素、蛋白质、微生物等)的分析方法,由于高等动物都有免疫功能,在细菌、病毒和有害物等病原入侵时,能产生抵御外来物的抗体,因此抗体是专为抗原产生的,所以免疫法的专一性及亲和力极强,检测方法十分灵敏。但是免疫法通常需要昂贵的检测仪器,操作步骤繁琐,不利于家庭化。

[0003] 自从上世纪 70 年代袖珍血糖仪发明后,病人便可在家自测血糖,快速得出结果,从而决定治疗方案,这被认为是糖尿病治疗史上的一个里程碑。血糖仪作为一种小型的测定血糖含量的工具,具有采血量少(仅需 2 微升),显示结果快,结果准确,操作简便,价格便宜等诸多优点,自问世以来便得到糖尿病患者的广泛应用,但在其他疾病的检测上却鲜有类似的仪器。

[0004] 本发明创造性的将生物标志物含量测定转换为检测葡萄糖的浓度,并采用直读便携式血糖仪即可快速测定。该技术将血糖仪发展成为了一种便携式、万能型的生物标志物及 DNA 测定仪,这在生物医学、临床诊断等领域具有潜在的应用前景。

### 发明内容

[0005] 本发明的目的是将生物标志物或者 DNA 测定转化为检测最终产物葡萄糖的浓度,并基于血糖仪检测器,为各种生物标志物提供一种简单、快捷、低成本、高灵敏的测定方法。采用直读便携式血糖检测仪测定生物标志物及 DNA 含量,将血糖仪发展成为一种万能型、便携式的生物标志物及 DNA 测定仪。

[0006] 本发明的技术方案:用直读便携式血糖仪测定生物标志物及 DNA 含量的方法,其特征在于:采用包埋葡萄糖分子的载体,例如:脂质体、金属空心球、多孔碳球、多孔硅球或聚合物球作为复合标记物,通过夹心免疫反应或者 DNA 反应将其引入到传感器表面,将生物标志物或者 DNA 测定转化为检测最终产物葡萄糖,根据夹心免疫分析原理,待测生物标

志物及 DNA 的含量与被包埋的葡萄糖含量成正比,通过血糖仪检测葡萄糖的浓度即得到生物标志物及 DNA 的含量。

[0007] 本发明以磷化蛋白 p53<sup>15</sup> 测定为例进行说明。

[0008] 1、Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-p53<sup>15</sup>Ab<sub>1</sub> 的制备方法:

[0009] 1)、200 μ L 5.0mg/mL 羧基化的磁性纳米颗粒 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-COOH 分散在 1.0mL 含有 400mM 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐(EDC)和 100mM N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)的 pH5.2 磺基脂肪酸甲酯钠盐缓冲溶液(MES)中活化 30min 后磁分离,并用磷酸缓冲溶液(PBS)多次洗涤除去过量的 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐和 N-羟基琥珀酰亚胺;

[0010] 2)、将 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-COOH 分散在 1.0mL 20 μ g/mL p53<sup>15</sup>Ab<sub>1</sub> 中反应过夜(12h),磁分离后用磷酸缓冲溶液(PBS)洗涤 3 次,将所得到的磁性纳米复合物 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-p53<sup>15</sup>Ab<sub>1</sub> 分散在含有 1% 牛血清蛋白(BSA)的磷酸缓冲溶液(PBS)中,保存于 4℃ 备用;

[0011] 2、p53<sup>15</sup>Ab<sub>2</sub>-liposome 复合标记物的制备

[0012] 具体步骤为:

[0013] 第一步,制备包埋葡萄糖的生物素标记脂质体:称取 124mg 氢化大豆卵磷脂(HSPC)、25mg 胆固醇、6mg 二硬脂酰乙醇胺-聚乙二醇-生物素(DSPE-PEG-biotin)加入到 50mL 圆底烧瓶中,二硬脂酰乙醇胺-聚乙二醇-生物素摩尔比 159:64:2,溶于 15mL 混合溶剂,混合溶剂是氯仿、异丙醚和甲醇混合物,混合物中氯仿:异丙醚:甲醇体积比 =6:6:1,在 45℃ 氮气保护下超声,直到混合物分散均匀,接着将 5mL 5mg/mL 45℃ 的葡萄糖溶液加入上述混合物中探头超声 5 分钟,使其形成颗粒均匀分散的乳浊液;然后在 45℃ 减压旋转蒸发以除去有机溶剂,得到类凝胶状的分散液;所得到的脂质体溶液在 45℃ 水浴孵化 30min 后,维持在 45℃ 条件下反复过厚度为 0.4 μ m 聚碳酸酯膜 10 次,得到粒径均匀分布的包埋葡萄糖的脂质体,将反应液通过 Sephadex G-50 柱以除去未包封的葡萄糖及残留的有机物,然后在室温下透析 12h,即得到包埋葡萄糖的生物素标记脂质体;

[0014] 第二步,合成 p53<sup>15</sup>Ab<sub>2</sub>-liposome 复合标记物:p53<sup>15</sup>Ab<sub>2</sub>-liposome 通过生物素(biotin)和亲和素(avidin)之间的相互作用来合成,包埋葡萄糖的生物素标记脂质体(biotin-liposome)按第一步合成,商品化的 p53<sup>15</sup>Ab<sub>2</sub> 也是生物素标记的,即 p53<sup>15</sup>Ab<sub>2</sub>-biotin,具体操作如下:100 μ L 0.06mg mL<sup>-1</sup>亲和素(avidin)与 100 μ L 生物素标记脂质体室温混合震荡 2h,待其反应完全后向混合物中加入 100 μ L 7.5 μ g/mL p53<sup>15</sup>Ab<sub>2</sub>-biotin 室温反应 2h,接着将所得到的免疫复合物 p53<sup>15</sup>Ab<sub>2</sub>-生物素-亲和素-生物素标记脂质体(p53<sup>15</sup>Ab<sub>2</sub>-biotin-avidin-biotin-liposome,简称为:p53<sup>15</sup>Ab<sub>2</sub>-liposome)超滤离心以除去未结合的抗体,然后将其分散在含有 1% 牛血清蛋白(BSA)的磷酸缓冲溶液(PBS)中,保存于 4℃ 冰箱备用。

[0015] 3、检测方法

[0016] 用直读便携式血糖仪测定生物标志物及 DNA 的方法测定磷化 p53 蛋白(p53<sup>15</sup>)步骤如下:

[0017] (1) 免疫反应:在 9 个 0.5mL 塑料离心管中分别加入 100 μ L 磁性纳米复合物 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-p53<sup>15</sup>Ab<sub>1</sub>,然后在上述 9 个离心管中分别加入 100 μ L 浓度为 0.2ng/mL, 0.5ng/mL, 1ng/mL, 2ng/mL, 5ng/mL, 10ng/mL, 20ng/mL, 50ng/mL, 100ng/mL 的 p53<sup>15</sup>,孵化 50 分钟后,磁性分

离；用磷酸缓冲溶液洗涤 3 次，再分别加入 100  $\mu$  L 脂质体复合标记物 p53<sup>15</sup>Ab<sub>2</sub>-liposome，孵化 40 分钟，磁性分离；

[0018] (2)测定：向离心管中加入 10  $\mu$  L 10mg/mL Triton X-100 (曲拉通 X-100, 化学名称为聚乙二醇辛基苯基醚, 又名: OP-10 乳化剂, 属于非离子型表面活性剂, 分子量为 646.86, 外观白色), 使葡萄糖分子从被俘获的脂质体的内腔中释放出来；然后磁分离移走免疫复合物, 取 20  $\mu$  L 上层清液滴在血糖仪的试纸条上, 直接读出血糖仪的示数, 即为转化成样品中 p53<sup>15</sup> 的含量。

[0019] 本发明有益效果：

[0020] 1、) 应用范围极广。本发明将血糖仪发展成为了一种便携式、万能型的生物标志物及 DNA 含量测定仪, 构建了基于血糖仪检测技术的生物标志物及 DNA 分析新方法, 该方法将所需检测的抗原含量转化为脂质体包埋的葡萄糖浓度, 只需将载体上负载的抗体对应更换, 便可用于其它生物标志物的检测。对于 DNA 检测也是同样道理。因此, 该技术将血糖仪发展成为了一种便携式、万能型的生物标志物、DNA 测定仪。这是生物标志物及 DNA 实时、在线、简便、灵敏检测的一个重大突破。同时, 还可将该反应基底更换为试纸条、96 孔板等 (即: 将一抗负载到试纸条、96 孔板上), 应用范围进一步扩大。

[0021] 2、信号放大。以脂质体作为载体, 其内腔可包埋数万个葡萄糖分子, 与常规免疫方法相比, 该载体极大的提高了检测灵敏度。除了脂质体之外, 金属空心球、多孔碳球、多孔硅球、聚合物球等都可以作为载体包埋葡萄糖分子。

[0022] 3、操作简单, 快捷、成本低。Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 特有的磁性功能使得整个分离过程简单、高效, 最终收集的葡萄糖分子可以直接用小型、数显的血糖仪实现快速测定, 所用仪器设备简单, 分析成本低。

## 附图说明

[0023] 图 1 直读便携式血糖仪测定生物标志物及 DNA 含量的检测原理图；

[0024] 图 2 磷化 p53 蛋白 (p53<sup>15</sup>) 的检测原理图；

[0025] 图 3 p53<sup>15</sup> 浓度与血糖仪显示数的标准曲线 (结果显示血糖仪的示数与 p53<sup>15</sup> 浓度成正比)；

[0026] 图中: p53<sup>15</sup> 的浓度分别为: 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100ng/mL。

## 具体实施方式

[0027] 实施例 1

[0028] 用直读便携式血糖仪测定磷化 p53 蛋白 (p53<sup>15</sup>) 步骤如下：

[0029] (1) 免疫反应：在 9 个 0.5mL 塑料离心管中分别加入 100  $\mu$  L 磁性纳米复合物 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-p53<sup>15</sup>Ab<sub>1</sub>, 然后在上述 9 个离心管中分别加入 100  $\mu$  L 浓度为 0.2ng/mL, 0.5ng/mL, 1ng/mL, 2ng/mL, 5ng/mL, 10ng/mL, 20ng/mL, 50ng/mL, 100ng/mL 的 p53<sup>15</sup>, 孵化 50 分钟后, 磁性分离；用磷酸缓冲溶液洗涤 2 次以上后, 再分别加入 100  $\mu$  L 脂质体复合标记物 p53<sup>15</sup>Ab<sub>2</sub>-liposome, 孵化 40 分钟, 磁性分离；

[0030] (2) 测定：向离心管中加入 10  $\mu$  L 10mg/mL Triton X-100, 使葡萄糖分子从被俘获的脂质体的内腔中释放出来；然后磁分离移走免疫复合物, 取 20  $\mu$  L 上层清液滴在血糖仪

的试纸条上,直接读出血糖仪的示数,即为转化成样品中 p53<sup>15</sup> 的含量。

[0031] 实施例 2

[0032] 实施例 1 中所用的 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-p53<sup>15</sup>Ab<sub>1</sub> 的制备

[0033] 1)、200 μ L 5.0mg/mL 羧基化的磁性纳米颗粒 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-COOH,分散在 1.0mL 含有 400mM 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐和 100mM N-羟基琥珀酰亚胺的 pH5.2 磺基脂肪酸甲酯钠盐缓冲溶液中,活化 30min 后磁分离,并用磷酸缓冲溶液多次洗涤除去过量的 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐和 N-羟基琥珀酰亚胺;

[0034] 2)、将 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-COOH 分散在 1.0mL 20 μ g/mL p53<sup>15</sup>Ab<sub>1</sub> 中反应 12h,磁分离后用磷酸缓冲溶液洗涤 3 次,将所得到的磁性纳米复合物 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-p53<sup>15</sup>Ab<sub>1</sub> 分散在含有 1% 牛族血清蛋白的磷酸缓冲溶液中,保存于 4℃ 备用即可。

[0035] 实施例 3

[0036] 实施例 1 中所用的 p53<sup>15</sup>Ab<sub>2</sub>-liposome 复合标记物的制备

[0037] 第一步,制备包埋葡萄糖的生物素标记脂质体:称取 124mg 氢化大豆卵磷脂、25mg 胆固醇、6mg 二硬脂酰乙醇胺-聚乙二醇-生物素加入到 50mL 圆底烧瓶中,二硬脂酰乙醇胺-聚乙二醇-生物素摩尔比 159:64:2,溶于 15mL 混合溶剂,混合溶剂是氯仿、异丙醚和甲醇混合物,氯仿:异丙醚:甲醇体积比=6:6:1,在 45℃ 氮气保护下超声,直到混合物分散均匀,接着将 5mL 5mg/mL 45℃ 的葡萄糖溶液加入上述混合物中探头超声 5 分钟,使其形成颗粒均匀分散的乳浊液;然后在 45℃ 减压旋转蒸发以除去有机溶剂,得到类凝胶状的分散液;所得到的脂质体溶液在 45℃ 水浴孵化 30min 后,维持在 45℃ 条件下反复过厚度为 0.4 μ m 聚碳酸酯膜 10 次,得到粒径均匀分布的包埋葡萄糖的脂质体,将反应液通过 Sephadex G-50 柱以除去未包封的葡萄糖及残留的有机物,然后在室温下透析 12h,即得到包埋葡萄糖的生物素标记脂质体;

[0038] 第二步,合成 p53<sup>15</sup>Ab<sub>2</sub>-liposome 复合标记物:p53<sup>15</sup>Ab<sub>2</sub>-liposome 通过生物素和亲和素之间的相互作用来合成,包埋葡萄糖的生物素标记脂质体按第一步合成,商品化的 p53<sup>15</sup>Ab<sub>2</sub> 也是生物素标记的,即 p53<sup>15</sup>Ab<sub>2</sub>-biotin,具体操作如下:100 μ L 0.06mg mL<sup>-1</sup> 亲和素与 100 μ L 生物素标记脂质体室温混合震荡 2h,待其反应完全后向混合物中加入 100 μ L 7.5 μ g/mL p53<sup>15</sup>Ab<sub>2</sub>-biotin 室温反应 2h,接着将所得到的免疫复合物 p53<sup>15</sup>Ab<sub>2</sub>-生物素-亲和素-生物素标记脂质体,简称为:p53<sup>15</sup>Ab<sub>2</sub>-liposome,超滤离心以除去未结合的抗体,然后将其分散在含有 1% 牛血清蛋白的磷酸缓冲溶液中,保存于 4℃ 冰箱备用即可。

[0039] 表 1 包埋葡萄糖的脂质体的表征

[0040] 结果显示:脂质体的平均粒径约为 176nm,每个脂质体中可以包埋 4×10<sup>5</sup> 个葡萄糖分子。表 2 该方法检测结果与 ELISA 的对比

[0041] 结果显示:该方法检测结果与传统的 ELISA 检测具有很好的一致性。其相对误差范围小于 ±5%,说明该方法检测是可信的。

[0042] 表 1 包埋葡萄糖的脂质体的表征

[0043]

参数	数值
平均粒径 (nm)	176
脂质体的体积 (uL)	$2.53 \times 10^{-12}$
葡萄糖的含量 (mg/mL)	5
单个脂质体包埋葡萄糖的分子数	$4 \times 10^5$
脂质体的浓度(number/mL)	$2 \times 10^{14}$
脂质体表面生物素分子的个数	~5099

[0044] 表 2 本发明方法检测结果与 ELISA 的对比

[0045]

样品编号	本实验检测结果 (ng/mL)	ELISA 检测结果 (ng/mL)	相对误差 (%)
1	0.494	0.50	-1.20
2	1.053	1.10	-4.27
3	1.986	2.00	-0.70
4	5.094	5.00	1.88
5	10.206	10.10	1.05

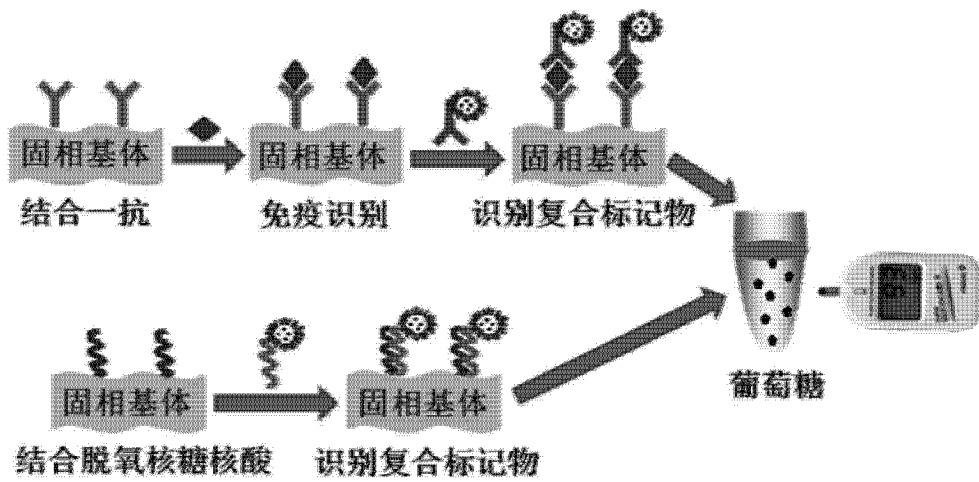


图 1

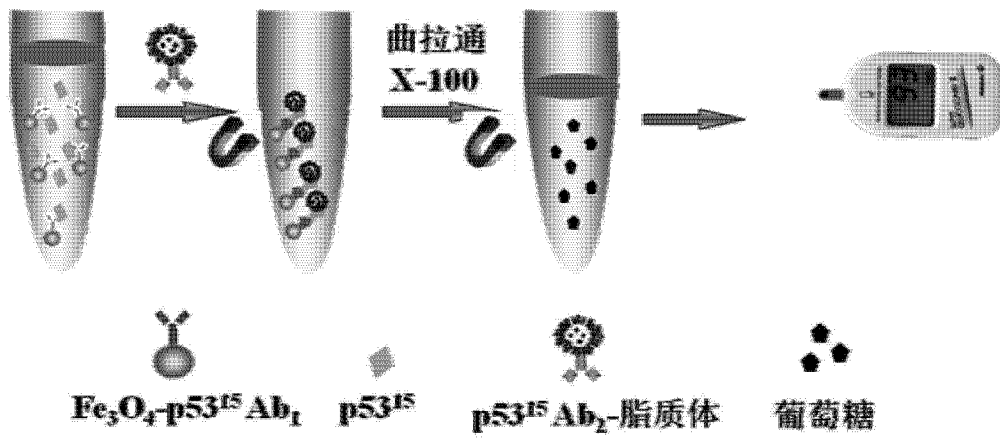


图 2

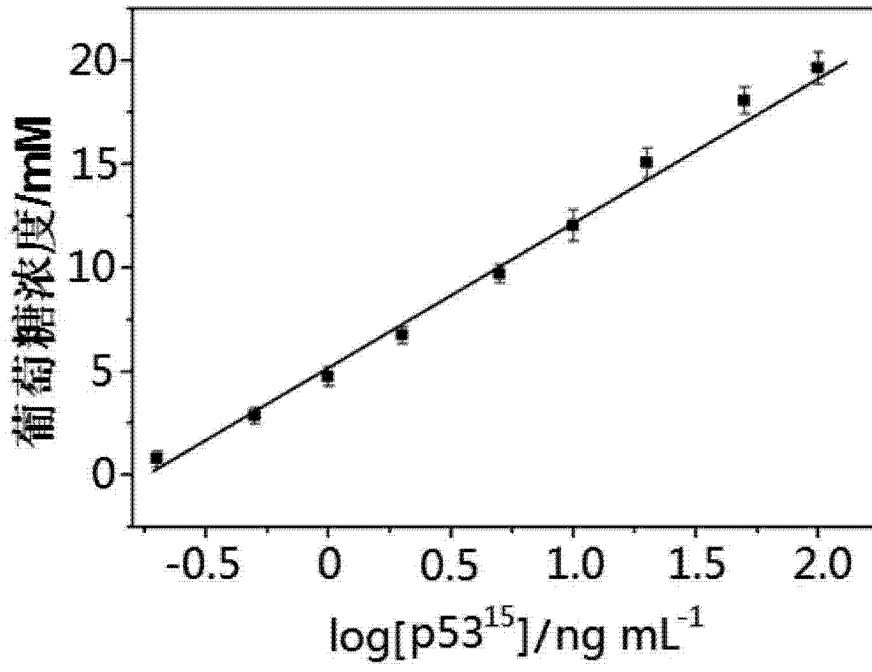


图 3

专利名称(译)	直读便携式血糖仪测定生物标志物及DNA含量的方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN103353521A</a>	公开(公告)日	2013-10-16
申请号	CN201310219363.X	申请日	2013-06-04
[标]申请(专利权)人(译)	华中师范大学		
申请(专利权)人(译)	华中师范大学		
当前申请(专利权)人(译)	华中师范大学		
[标]发明人	牡丹		
发明人	牡丹		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/531		
代理人(译)	张安国 乔宇		
其他公开文献	CN103353521B		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

一种用直读便携式血糖仪测定生物标志物及DNA含量的方法，采用包埋葡萄糖分子的载体脂质体、金属空心球、多孔碳球、多孔硅球或聚合物球作为复合标记物，通过夹心免疫反应或者DNA反应引入到传感器表面，将生物标志物或者DNA检测转化为检测最终产物葡萄糖，根据夹心免疫分析原理，待测生物标志物及DNA的含量与被包埋的葡萄糖含量成正比，通过血糖仪检测葡萄糖的浓度即得到生物标志物及DNA的含量。本发明将血糖仪发展成为了一种便携式、万能型的生物标志物及DNA测定仪，构建了基于血糖仪检测技术的生物标志物及DNA分析新方法，可用于各种生物标志物、DNA的实时、在线、简便、灵敏的测定。所用仪器设备简单，分析成本低。

